

# LINC00662 调控 miR-340-5p 对肾细胞癌细胞增殖和凋亡的影响

王宪<sup>1</sup>, 王鑫朋<sup>2</sup>, 归洪伟<sup>1</sup>, 李响<sup>3</sup>

<sup>1</sup>沧州市中心医院泌尿外二科, 河北沧州 061000; <sup>2</sup>沧州市中心医院泌尿外一科, 河北沧州 061000; <sup>3</sup>北京大学第三医院秦皇岛医院泌尿外科, 河北秦皇岛 066000

[中图分类号] R737.11 [文献标志码] A [DOI] 10.11855/j.issn.0577-7402.1347.2025.1022

[声明] 本文所有作者声明无利益冲突

[引用本文] 王宪, 王鑫朋, 归洪伟, 等. LINC00662 调控 miR-340-5p 对肾细胞癌细胞增殖和凋亡的影响[J]. 解放军医学杂志, 2025, 50(12): 1586-1593.

[收稿日期] 2025-07-03 [录用日期] 2025-09-09 [上线日期] 2025-10-22

**[摘要]** 目的 探讨长链非编码 RNA LINC00662 调控微小 RNA(miR)-340-5p 对肾细胞癌细胞增殖和凋亡的影响。方法 采用 qRT-PCR 检测 60 例透明细胞肾细胞癌(ccRCC)患者 ccRCC 组织及人肾透明细胞腺癌细胞中 LINC00662、miR-340-5p 的表达情况。生物信息学分析和荧光素酶实验验证 LINC00662 与 miR-340-5p 的靶向关系。将人肾透明细胞腺癌细胞 786-O 分为空白组、下调对照组、LINC00662 下调组、上调对照组、miR-340-5p 上调组、LINC00662 下调+anti-miR-NC 组、LINC00662 下调+anti-miR-340-5p 组。采用克隆形成实验、CCK-8 法检测 786-O 细胞增殖与活力; Annexin V/PI 双染色法检测细胞凋亡情况; Western blotting 检测细胞增殖细胞核抗原(PCNA)、Bcl-2 细胞凋亡相互作用介质(Bim)蛋白表达水平; 裸鼠移植瘤实验检测 LINC00662、miR-340-5p 对裸鼠瘤体组织 PCNA、Bim 蛋白及体内移植瘤生长的影响。结果 与癌旁组织或正常肾上皮细胞比较, ccRCC 组织和 3 种 ccRCC 细胞中 LINC00662 表达明显增高( $P<0.05$ ), miR-340-5p 表达明显降低( $P<0.05$ )。生物信息学分析和荧光素酶实验结果显示, LINC00662 可靶向调控 miR-340-5p。与空白组、下调对照组比较, LINC00662 下调组 786-O 细胞克隆形成数、细胞活力、LINC00662 和 PCNA 蛋白表达水平, 以及裸鼠移植瘤瘤体重量、体积均降低或减小( $P<0.05$ ), 而细胞凋亡率、miR-340-5p 和 Bim 蛋白表达水平增高( $P<0.05$ ); 与空白组、上调对照组比较, miR-340-5p 上调组 786-O 细胞克隆形成数、细胞活力、PCNA 蛋白表达水平, 以及裸鼠移植瘤瘤体重量、体积均降低或减小( $P<0.05$ ), 而细胞凋亡率、miR-340-5p 和 Bim 蛋白表达水平增高( $P<0.05$ ); 与 LINC00662 下调组、LINC00662 下调+anti-miR-NC 组比较, LINC00662 下调+anti-miR-340-5p 组克隆形成数、细胞活力、PCNA 蛋白表达水平, 以及裸鼠移植瘤瘤体重量、体积均增高( $P<0.05$ ), 而细胞凋亡率、miR-340-5p 和 Bim 蛋白表达水平下调( $P<0.05$ )。结论 抑制 LINC00662 可能通过上调 miR-340-5p 抑制 ccRCC 细胞增殖活性及体内肿瘤生长, 并促进细胞凋亡。

**[关键词]** 透明细胞肾细胞癌; LINC00662; miR-340-5p; 增殖; 凋亡

## Impacts of LINC00662 on the proliferation and apoptosis of renal cell carcinoma cells by regulating miR-340-5p

Wang Xian<sup>1</sup>, Wang Xin-Peng<sup>2</sup>, Gui Hong-Wei<sup>1</sup>, Li Xiang<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Second Department of Urology, <sup>2</sup>First Department of Urology, Cangzhou Central Hospital, Cangzhou, Hebei 061000, China

<sup>3</sup>Department of Urology, Qinhuangdao Hospital, the Third Hospital of Peking University, Qinhuangdao, Hebei 066000, China

This work was supported by the Medical Research Program of Hebei (20232129)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the impacts of long noncoding RNA LINC00662 on the proliferation and apoptosis of renal cell carcinoma cells by regulating microRNA (miR) -340-5p. **Methods** qRT-PCR was used to detect the expressions of LINC00662 and miR-340-5p in clear cell renal cell carcinoma (ccRCC) tissues from 60 patients with ccRCC, as well as in human clear cell renal cell carcinoma cells. The targeting relationship between LINC00662 and miR-340-5p was validated by bioinformatics analysis and luciferase assay. Human renal clear cell adenocarcinoma cells 786-O were assigned into blank group, downregulation

**[基金项目]** 河北省医学科学研究课题(20232129)

**[作者简介]** 王宪, 医学硕士, 副主任医师, 主要从事泌尿生殖肿瘤方面的研究

control group, LINC00662 downregulation group, upregulation control group, miR-340-5p upregulation group, LINC00662 downregulation+anti-miR-NC group, and LINC00662 downregulation+anti-miR-340-5p group. Clone formation experiment and CCK-8 assay were employed to detect cell proliferation and viability. Annexin V/PI double staining was utilized to evaluate cell apoptosis. Western blotting was applied to detect proliferating cell nuclear antigen (PCNA) and Bcl-2 interacting mediator of cell apoptosis (Bim) proteins in cells. The nude mouse xenograft assay was conducted to assess the effects of LINC00662 and miR-340-5p on PCNA and Bim proteins in nude mouse tumor tissues and tumor growth *in vivo*. **Results** Compared with adjacent tissues or normal renal epithelial cells, LINC00662 expression was significantly higher ( $P<0.05$ ), and miR-340-5p expression was significantly lower than that in ccRCC tissues or 3 ccRCC cells ( $P<0.05$ ). Bioinformatics analysis and luciferase assay showed that LINC00662 targeted and regulated miR-340-5p. Compared with blank group and downregulation control group, 786-O cells in LINC00662 downregulation group showed decreased clone formation number, cell viability, LINC00662 expression, PCNA protein level, and the weight and volume of nude mouse xenografts ( $P<0.05$ ), and increased miR-340-5p expression, apoptosis rate, and Bim protein level ( $P<0.05$ ). Compared with blank group and upregulation control group, 786-O cells in miR-340-5p upregulation group showed decreased clone formation number, cell viability, PCNA protein level, and the weight and volume of nude mouse xenografts ( $P<0.05$ ), and increased apoptosis rate, miR-340-5p expression, and Bim protein level ( $P<0.05$ ). Compared with LINC00662 downregulation group and LINC00662 downregulation+anti-miR-NC group, 786-O cells in LINC00662 downregulation+anti-miR-340-5p group showed increased clone formation number, cell viability, PCNA protein level, and the weight and volume of nude mouse xenografts ( $P<0.05$ ), and decreased apoptosis rate, miR-340-5p expression, and Bim protein level ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Knockdown of LINC00662 can inhibit the proliferation and viability of ccRCC cells, suppress tumor growth *in vivo*, and promote cell apoptosis by upregulating miR-340-5p.

**[Key words]** clear cell renal cell carcinoma; LINC00662; miR-340-5p; proliferation; apoptosis

肾细胞癌是常见的泌尿生殖系统肿瘤，其发病率逐年上升<sup>[1-2]</sup>。透明细胞肾细胞癌(ccRCC)作为肾细胞癌的常见亚型，起病隐匿，早期缺乏特异性临床症状，易被误诊<sup>[3-4]</sup>。尽管近年来诊断和治疗取得重大进展，但晚期或转移性ccRCC患者的预后仍较差<sup>[5]</sup>。因此，了解驱动ccRCC进展的分子机制对于开发新的治疗策略至关重要。近期研究显示，长链非编码RNA(long non-coding RNA, LncRNA)失调与ccRCC的发生有关<sup>[6]</sup>。LINC00662是一种较有潜力的新型致癌LncRNA<sup>[7]</sup>。有研究报道，下调LINC00662可降低膀胱癌细胞的增殖活性，促进其凋亡<sup>[8]</sup>；但其对ccRCC细胞增殖和凋亡的影响尚不清楚。有研究报道miR-340-5p可在ccRCC中发挥抑癌作用<sup>[9]</sup>；本课题组的生物信息学预测和前期实验结果显示，LINC00662与miR-340-5p存在高度互补的结合位点，且两者在ccRCC组织中的表达呈明显负相关<sup>[10]</sup>。本研究选择miR-340-5p作为关键调控靶点，探究LINC00662对ccRCC细胞增殖和凋亡的影响及相关分子机制。

## 1 材料与方法

**1.1 ccRCC标本、细胞和实验动物** 石蜡包埋的60例患者ccRCC组织及癌旁组织由沧州市中心医院病理科提供。在收集患者样本前，所有受试者均提供知情同意书。人肾透明细胞腺癌细胞RCC4、A498、786-O及人正常肾上皮细胞AD293购自武汉尚恩生物技术有限公司。本研究获沧州市中心医院伦理委员会审批[2024-032-01(z)]。

35只雄性BALB/c裸鼠，5周龄，体重22~24g，购自赛业(固安)生物科技有限公司[实验动物生产许可证号：SCXK(冀)2021-003]。动物实验方案获赛业(固安)生物科技有限公司动物伦理委员会审批(2024-02193)。

**1.2 主要试剂** Trizol试剂(20231003, 上海善然生物科技有限公司); CCK-8试剂盒(20231106, 深圳市安培生物科技有限公司); Annexin V-FITC/PI细胞凋亡检测试剂盒(MA0220, 上海美仑生物技术有限公司); 兔抗人增殖细胞核抗原(PCNA)、GAPDH、Bcl-2细胞凋亡相互作用介质(Bim)抗体和山羊抗兔IgG二抗(货号ab18197、ab181602、ab32158、ab6721, 英国Abcam公司)。

**1.3 生物信息学分析和荧光素酶实验验证miR-340-5p与LINC00662的靶向关系** 利用StarBase(<https://starbase.sysu.edu.cn/>)在线数据库，预测LINC00662与miR-340-5p之间潜在的互补结合位点。将含有miR-340-5p预测结合位点的LINC00662的3'UTR野生型序列(WT)、突变型序列(MUT)分别克隆到pmirGLO荧光素酶报告载体上，将上述载体分别与miR-340-5p mimic或mimic NC共转染786-O细胞。转染24h后，测定荧光素酶活性。

**1.4 细胞分组及处理** 将786-O细胞分为空白组、下调对照组、LINC00662下调组、上调对照组、miR-340-5p上调组、LINC00662下调+anti-miR-NC组、LINC00662下调+anti-miR-340-5p组。空白组细胞正常培养；下调对照组、LINC00662下调组、上调对照组、miR-340-5p上调组细胞分别转染si-NC、

si-LINC00662、mimic NC、miR-340-5p mimic 24 h; LINC00662 下调 +anti-miR-NC 组细胞共转染 si-LINC00662 和 inhibitor NC 24 h; LINC00662 下调 +anti-miR-340-5p 组细胞共转染 si-LINC00662 和 miR-340-5p inhibitor 24 h。处理结束后,进行指标检测。

**1.5 qRT-PCR 检测 ccRCC 组织及细胞中 LINC00662、miR-340-5p 表达水平** 使用 Trizol 试剂提取组织或细胞总 RNA,取 1  $\mu$ g RNA 反转录成 cDNA。将 cDNA 作为 qRT-PCR 的模板,以甘油醛-3-磷酸脱氢酶基因 (GAPDH)、U6 分别作为 LINC00662、miR-340-5p 的内参,采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  法检测基因表达量。引物序列 (5'-3'): LINC00662, 上游 TGGACATCTGTCTGGAG G, 下游 GGCTGAGGCATAAGAATCG; GAPDH, 上游 CGACTTATACATGGCCTTA, 下游 TTCCGATCA CTGTTGGAAT; miR-340-5p, 上游 TCGGCAGGTTA TAAAGCAATGA, 下游 CTCAACTGGTGTCTGTGGA GT; U6, 上游 CTCGCTTCGGCAGCACA, 下游 AACGCTTACGAATTTGCGT。

**1.6 786-O 细胞克隆形成实验** 将各组 786-O 细胞悬液 (800 个) 均匀涂抹于直径为 6 cm 的细胞培养皿中, 孵育 10 d 后, 甲醛固定、结晶紫染色, 观察并统计细胞克隆形成数。

**1.7 CCK-8 法检测 786-O 细胞活力** 786-O 细胞接种于 96 孔板 ( $1 \times 10^4$  个/孔) 中, 按照 1.4 所述进行处理后, 各孔中加入 10  $\mu$ l CCK-8 试剂在 37 $^{\circ}$ C 下孵育 1 h。在 450 nm 处用酶标仪测量吸光度 (OD<sub>450</sub>) 值。

**1.8 Annexin V/PI 双染色法检测 786-O 细胞凋亡情况** 各组 786-O 细胞在 PBS 中洗涤 3 次, 然后与 FITC-Annexin V 和 PI 混合物孵育 15 min。采用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

**1.9 Western blotting 检测 786-O 细胞 PCNA、Bim 蛋白表达水平** 用 RIPA 裂解缓冲液提取各组 786-O 细胞总蛋白, 采用 BCA 法测定蛋白浓度。蛋白质样品通过 12% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分

离, 并转移到聚偏二氟乙烯膜上。用 5% 脱脂奶粉阻断膜, 加入 PCNA、GAPDH、Bim 一抗 (均 1:5000) 孵育; 再用二抗 (1:6000) 在室温下孵育膜 1 h。最后用化学发光试剂检测蛋白条带, ImageJ 软件量化蛋白灰度值。

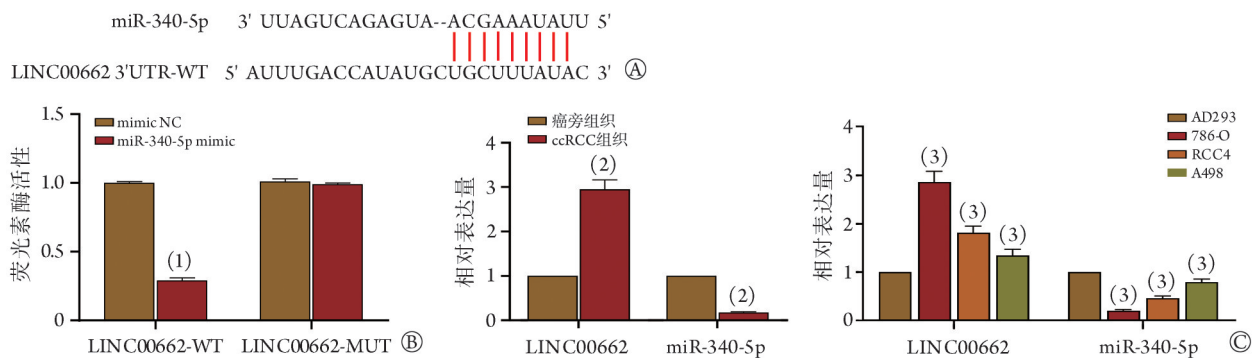
**1.10 裸鼠体内移植瘤实验** 将 1.4 中的各组 786-O 细胞慢病毒液注射到裸鼠大腿皮下组织 ( $n=5$ )。28 d 后, 颈椎脱臼法处死裸鼠, 分离移植瘤瘤体, 称量瘤体重量、体积, 并检测各组瘤体组织 LINC00662、miR-340-5p 表达及 PCNA、Bim 蛋白表达水平。

**1.11 统计学处理** 采用 GraphPad Prism 9.0 软件进行统计分析。计量数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 两组间比较采用  $t$  检验多组间比较采用单因素方差分析, 进一步两两比较采用 SNK- $q$  事后检验。  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 LINC00662 与 miR-340-5p 靶向关系验证及其在 ccRCC 组织与细胞中的表达** 生物信息学分析结果显示, LINC00662 与 miR-340-5p 可结合 (图 1A)。与 mimic NC 和 LINC00662-WT 共转染的 786-O 细胞比较, miR-340-5p mimic 和 LINC00662-WT 共转染的 786-O 细胞荧光素酶活性下降 ( $0.29 \pm 0.02$  vs.  $1.00 \pm 0.01$ ,  $P < 0.05$ ); 与 mimic NC 和 LINC00662-MUT 共转染的 786-O 细胞比较, miR-340-5p mimic 和 LINC00662-MUT 共转染的 786-O 细胞荧光素酶活性差异无统计学意义 ( $0.99 \pm 0.01$  vs.  $1.01 \pm 0.02$ ,  $P > 0.05$ , 图 1B)。

与癌旁组织比较, ccRCC 组织 LINC00662 表达水平明显增高 ( $P < 0.05$ ), 而 miR-340-5p 表达水平明显降低 ( $P < 0.05$ )。与 AD293 细胞比较, RCC4、A498、786-O 细胞中 LINC00662 表达水平明显增高 ( $P < 0.05$ ), miR-340-5p 表达水平明显降低 ( $P < 0.05$ ); 其中以 786-O 细胞的差异最大, 故后续细胞实验均以其作为研究对象 (图 1C)。



WT. 野生型; MUT. 突变型; ccRCC. 透明细胞肾细胞癌; AD293 为人正常肾上皮细胞, 786-O、RCC4 和 A498 为 3 种 ccRCC 细胞; 与 mimic NC 组比较, (1)  $P < 0.05$ ; 与癌旁组织比较, (2)  $P < 0.05$ ; 与 AD293 细胞比较, (3)  $P < 0.05$

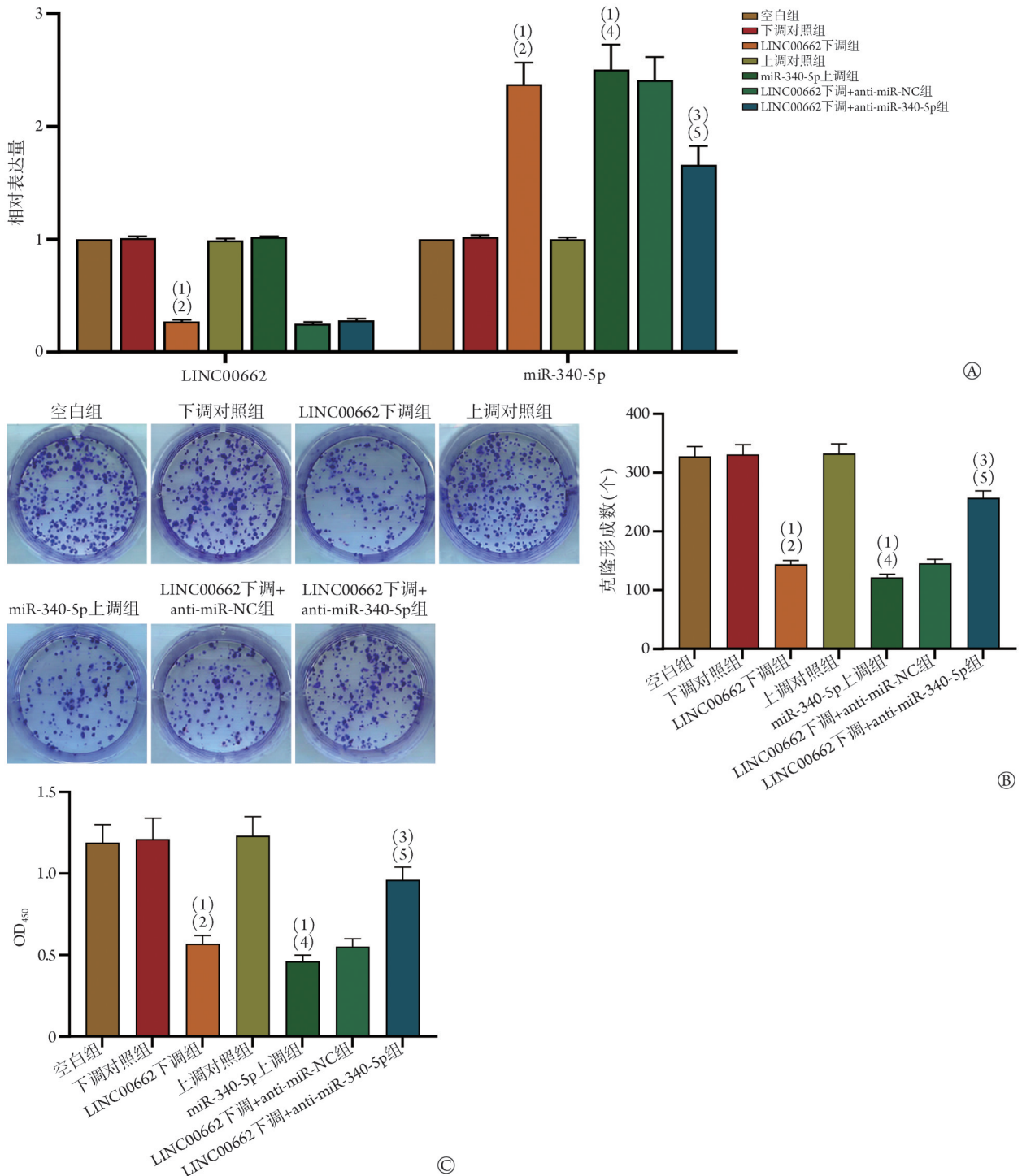
图 1 LINC00662 与 miR-340-5p 的结合位点 (A) 和荧光素酶活性 (B) 及其在 ccRCC 组织与细胞中的表达 (C)

Fig.1 The binding site (A) and luciferase activity (B) of LINC00662 and miR-340-5p and its expression in the tissue and cells of ccRCC (C)

**2.2 抑制 LINC00662 或上调 miR-340-5p 对 786-O 细胞增殖的影响** 与空白组、下调对照组比较, LINC00662 下调组 LINC00662 表达下调, miR-340-5p 表达上调 ( $P<0.05$ ); 与空白组、上调对照组比较, miR-340-5p 上调组 miR-340-5p 表达上调 ( $P<0.05$ ); 与 LINC00662 下调组、LINC00662 下调+anti-miR-NC 组比较, LINC00662 下调+anti-miR-340-5p 组 miR-340-5p

表达下调 ( $P<0.05$ , 图 2A)。

与空白组、下调对照组比较, LINC00662 下调组 786-O 细胞克隆形成数减少, 细胞活力降低 ( $P<0.05$ ); 与上调对照组、空白组比较, miR-340-5p 上调组 786-O 细胞克隆形成数减少, 细胞活力降低 ( $P<0.05$ ); 与 LINC00662 下调组、LINC00662 下调+anti-miR-NC 组比较, LINC00662 下调+anti-miR-340-5p 组



与空白组比较, (1) $P<0.05$ ; 与下调对照组比较, (2) $P<0.05$ ; 与 LINC00662 下调组比较, (3) $P<0.05$ ; 与上调对照组比较, (4) $P<0.05$ ; 与 LINC00662 下调+anti-miR-NC 组比较, (5) $P<0.05$

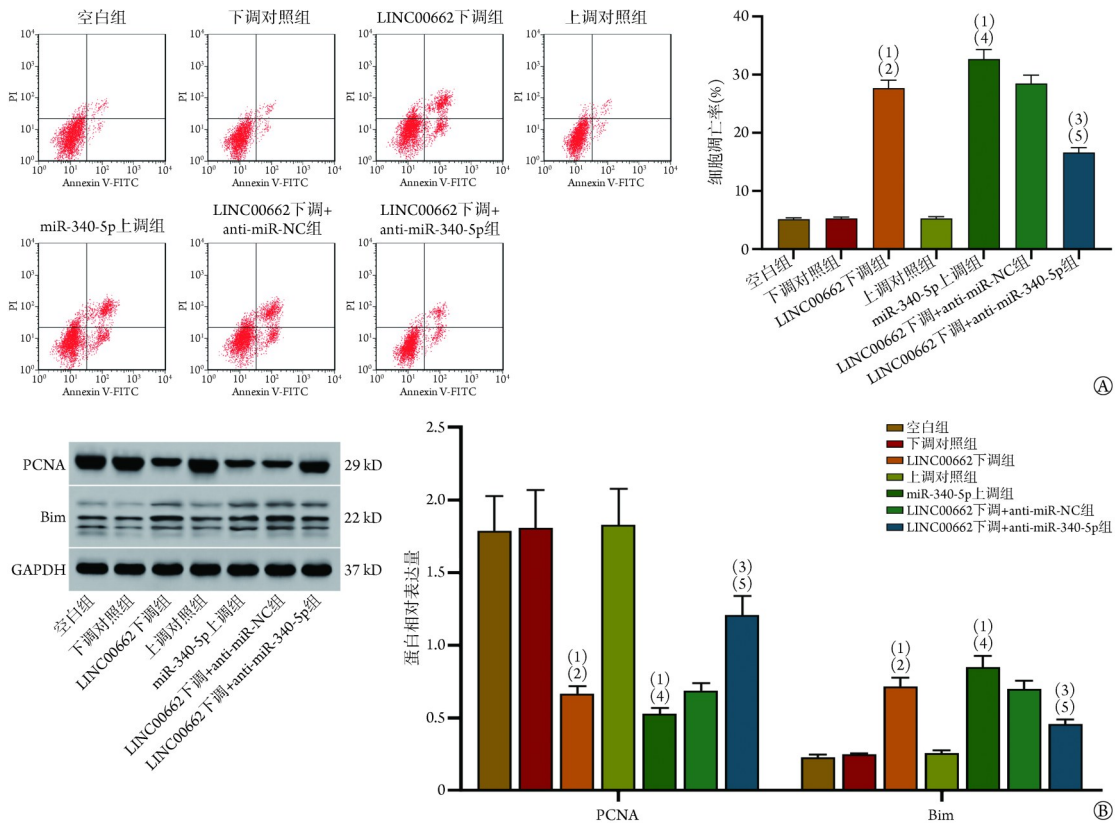
图 2 各组 786-O 细胞 LINC00662、miR-340-5p 表达(A)和细胞克隆形成数(B)、细胞活力(OD<sub>450</sub>)(C)比较

Fig.2 Expression of LINC00662 and miR-340-5p (A), colony-forming numbers (B), and cell viability (OD<sub>450</sub>)(C) in each group of 786-O cells

786-O 细胞克隆形成数增多, 细胞活力增高( $P<0.05$ ) (图2B—C)。

**2.3 抑制 LINC00662 或上调 miR-340-5p 对 786-O 细胞凋亡和 PCNA、Bim 蛋白表达的影响** 与空白组、下调对照组比较, LINC00662 下调组 786-O 细胞凋亡率增高( $P<0.05$ ); 与空白组、上调对照组比较, miR-340-5p 上调组 786-O 细胞凋亡率增高( $P<0.05$ ); 与 LINC00662 下调组、LINC00662 下调+anti-miR-NC 组比较, LINC00662 下调+anti-miR-340-5p 组 786-O 细胞凋亡率降低( $P<0.05$ , 图 3A)。

Western blotting 检测结果显示, 与空白组、下调对照组比较, LINC00662 下调组 786-O 细胞 PCNA 蛋白表达水平降低( $P<0.05$ ), Bim 蛋白表达水平增高( $P<0.05$ ); 与空白组、上调对照组比较, miR-340-5p 上调组 786-O 细胞 PCNA 蛋白表达水平降低( $P<0.05$ ), Bim 蛋白表达水平增高( $P<0.05$ ); 与 LINC00662 下调组、LINC00662 下调+anti-miR-NC 组比较, LINC00662 下调+anti-miR-340-5p 组 786-O 细胞 PCNA 蛋白表达水平增高( $P<0.05$ ), Bim 蛋白表达水平降低( $P<0.05$ , 图 3B)。



PCNA. 增殖细胞核抗原; Bim. Bcl-2 细胞凋亡相互作用介质; GAPDH. 甘油醛-3-磷酸脱氢酶; A. 流式细胞术检测结果; B. Western blotting 检测结果; 与空白组比较, (1) $P<0.05$ ; 与下调对照组比较, (2) $P<0.05$ ; 与 LINC00662 下调组比较, (3) $P<0.05$ ; 与上调对照组比较, (4) $P<0.05$ ; 与 LINC00662 下调+anti-miR-NC 组比较, (5) $P<0.05$

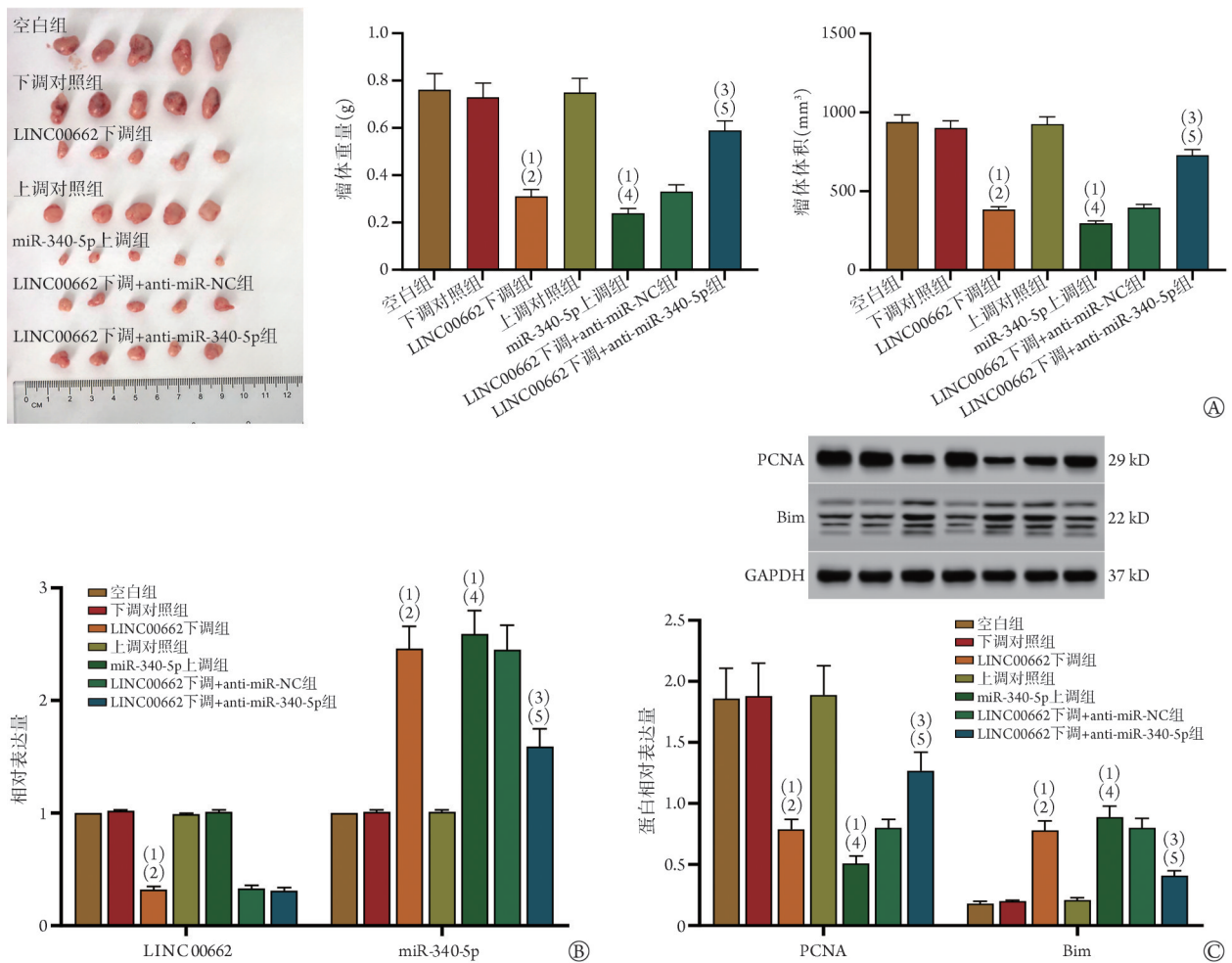
图 3 抑制 LINC00662 或上调 miR-340-5p 对 786-O 细胞凋亡(A)和 PCNA、Bim 蛋白表达(B)的影响

Fig.3 Effects of suppression of LINC00662 or up regulation of miR-340-5p on apoptosis (A) and expression of PCNA and Bim protein (B) in 786-O cells

**2.4 抑制 LINC00662 或上调 miR-340-5p 对裸鼠体内移植瘤生长及 PCNA、Bim 蛋白表达的影响** 与空白组、下调对照组比较, LINC00662 下调组裸鼠移植瘤瘤体重量降低, 体积减小( $P<0.05$ ); 与空白组、上调对照组比较, miR-340-5p 上调组裸鼠移植瘤瘤体重量降低, 体积减小( $P<0.05$ ); 与 LINC00662 下调组、LINC00662 下调+anti-miR-NC 组比较, LINC00662 下调+anti-miR-340-5p 组裸鼠移植瘤瘤体重量升高, 体积增大( $P<0.05$ , 图 4A)。

qRT-PCR 和 Western blotting 检测结果显示, 与空

白组、下调对照组比较, LINC00662 下调组瘤体组织 LINC00662 表达及 PCNA 蛋白表达水平降低, miR-340-5p 表达及 Bim 蛋白表达水平升高( $P<0.05$ ); 与空白组、上调对照组比较, miR-340-5p 上调组瘤体组织 PCNA 蛋白表达水平降低, miR-340-5p 表达及 Bim 蛋白表达水平升高( $P<0.05$ ); 与 LINC00662 下调组、LINC00662 下调+anti-miR-NC 组比较, LINC00662 下调+anti-miR-340-5p 组瘤体组织 PCNA 蛋白表达水平升高, miR-340-5p 表达及 Bim 蛋白表达水平降低( $P<0.05$ , 图 4B、C)。



PCNA. 增殖细胞核抗原; Bim. Bcl-2 细胞凋亡相互作用介质; GAPDH. 甘油醛-3-磷酸脱氢酶; A. 裸鼠体内移植瘤; B. qRT-PCR 检测结果; C. Western blotting 检测结果; 与空白组比较, (1) $P < 0.05$ ; 与下调对照组比较, (2) $P < 0.05$ ; 与 LINC00662 下调组比较, (3) $P < 0.05$ ; 与上调对照组比较, (4) $P < 0.05$ ; 与 LINC00662 下调+anti-miR-NC 组比较, (5) $P < 0.05$

**图 4** 抑制 LINC00662 或上调 miR-340-5p 对裸鼠体内移植瘤生长(A)、LINC00662 和 miR-340-5p 表达(B)以及 PCNA、Bim 蛋白表达(C)的影响

**Fig. 4** Effects of suppression of LINC00662 or up regulation of miR-340-5p on xenograft tumor growth (A), expression of LINC00662, miR-340-5p (B), PCNA, and Bim protein (C) in nude mice

### 3 讨 论

ccRCC 病死率高、预后差,对患者健康构成严重威胁<sup>[11-12]</sup>;其发生和发展机制尚待阐明。大量证据显示, LINC00662 可能在人类癌症的发生和发展中起关键作用。例如,敲低 LINC00662 可抑制前列腺癌细胞增殖并促进其凋亡<sup>[13]</sup>;下调 LINC00662 可抑制结肠直肠癌细胞生长并诱导其凋亡<sup>[14]</sup>;过表达 LINC00662 可促进肝癌细胞增殖并抑制其凋亡<sup>[15]</sup>。本研究中, LINC00662 在 ccRCC 组织中的表达高于癌旁组织,且人肾透明细胞腺癌 RCC4、A498、786-O 细胞中 LINC00662 表达均较高;细胞实验结果显示,抑制 LINC00662 后,786-O 细胞克隆形成数减少,细胞活力降低,细胞凋亡率增高,提示抑制 LINC00662 可抑制 786-O 细胞增殖活性,并诱导其凋亡行为。

此外, PCNA 是一种同源三聚体滑动夹复合物,在 DNA 复制过程的协调中起核心作用,可增强细胞增殖能力<sup>[16-17]</sup>; Bim 是一种促凋亡蛋白,其上调可加剧细胞凋亡行为<sup>[18-19]</sup>。本研究中,与空白组、下调对照组比较, LINC00662 下调组 786-O 细胞 PCNA 蛋白表达水平降低, Bim 蛋白表达水平增高;提示抑制 LINC00662 可抑制 786-O 细胞增殖活性,促进其凋亡。体内动物实验是对体外细胞实验的进一步补充与验证,为进一步确定体外细胞实验结论是否合理,本研究设计了裸鼠体内移植瘤实验;结果显示,与空白组、下调对照组比较, LINC00662 下调组裸鼠移植瘤瘤体重量降低,体积减小,瘤体组织 LINC00662 及 PCNA 蛋白表达水平降低, miR-340-5p 及 Bim 蛋白表达增高;提示抑制 LINC00662 可抑制裸鼠移植瘤生长。本研究体内实验与体外实验结果

一致,提示LINC00662可能成为治疗ccRCC的潜在靶点。本研究未分析LINC00662表达水平与ccRCC患者临床病理特征(如TNM分期、肿瘤分级)及预后的相关性。已有研究显示,在咽鳞状细胞癌中LINC00662高表达与不良预后明显相关<sup>[20]</sup>,提示其具有作为预后标志物的潜力。后续研究将扩大临床样本规模,系统评估LINC00662表达与ccRCC患者临床病理参数及生存率的关系,以进一步验证其临床价值。

有研究显示,LINC00662可通过调节miR-340-5p促进结肠癌细胞生长及肿瘤生长<sup>[21]</sup>。miR-340-5p在多种肿瘤中处于失调状态,研究显示,下调miR-340-5p可促进肝胆管癌的发生<sup>[22]</sup>;上调miR-340-5p可抑制ccRCC细胞生长,促进结直肠癌细胞增殖及裸鼠体内肿瘤生长,抑制细胞凋亡<sup>[23-24]</sup>。本研究结果与其基本一致。本研究结果显示,miR-340-5p在ccRCC组织中低表达,过表达miR-340-5p可抑制786-O细胞增殖活性及体内ccRCC肿瘤生长,并促进细胞凋亡;提示miR-340-5p可在ccRCC中发挥抑癌基因的作用。此外,在本研究中,抑制LINC00662后786-O细胞中miR-340-5p表达上调,推测抑制LINC00662可能通过上调miR-340-5p抑制786-O细胞增殖活性及体内肿瘤生长,并促进细胞凋亡。为验证该推测,本研究抑制LINC00662的同时再干预miR-340-5p表达(anti-miR-340-5p),结果显示,减弱了786-O细胞增殖活性及体内肿瘤生长的抑制作用以及对细胞凋亡的促进作用;提示抑制LINC00662可能通过上调miR-340-5p抑制786-O细胞增殖活性及体内肿瘤生长,并促进细胞凋亡。目前已有上调miR-340-5p靶向抑制SRY相关HMG-box基因4(SOX4)降低胆囊癌细胞增殖能力,促进凋亡能力的报道<sup>[25]</sup>。本研究结果虽然显示LINC00662通过调控miR-340-5p可影响ccRCC细胞的增殖和凋亡,但其具体机制尚未明确,如LINC00662/miR-340-5p影响ccRCC细胞增殖和凋亡的机制是否涉及SOX4的参与,LINC00662是否有调控ccRCC的其他机制或通路,尚有待后续实验进一步验证;另外,本研究ccRCC临床样本量相对有限,后续可扩大样本规模并结合癌症基因组图谱计划(TCGA)数据库分析,以进一步验证结果的可靠性。

综上所述,抑制LINC00662可能通过上调miR-340-5p抑制ccRCC细胞增殖活性及体内ccRCC肿瘤生长,并促进细胞凋亡。

#### 【参考文献】

- [1] Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, et al. Cancer statistics, 2022[J]. *CA Cancer J Clin*, 2022, 72(1): 7-33.
- [2] 董钰妍,刘永哲. MDA、AOPP、Nrf2、GSH水平与肾细胞癌患者腹腔镜肾部分切除术后急性肾损伤的相关性[J]. *解放军医学杂志*, 2024, 49(6): 670-678.
- [3] 赵群,王寅春,王旭,等. 混合性肾细胞癌行腹腔镜下肾部分切除术1例报告及文献复习[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2023, 49(3): 789-794.
- [4] Yang W, Chen H, Ma L, et al. The oncogene MYBL2 promotes the malignant phenotype and suppresses apoptosis through hedgehog signaling pathway in clear cell renal cell carcinoma[J]. *Heliyon*, 2024, 10(6): e27772.
- [5] Tan H, Liu J, Li Y, et al. CCDC25 suppresses clear cell renal cell carcinoma progression by LATS1/YAP-mediated regulation of the hippo pathway[J]. *Cancer Cell Int*, 2024, 24(1): 124-137.
- [6] Zhao J, Chen P, Tan C, et al. LncRNA LINC00667 gets involved in clear cell renal cell carcinoma development and chemoresistance by regulating the miR-143-3p/ZEB1 axis[J]. *Aging (Albany NY)*, 2023, 15(19): 10057-10071.
- [7] Zhong C, Zhang Q, Zhang M, et al. LINC00662: A new oncogenic lncRNA with great potential[J]. *J Cell Physiol*, 2022, 237(2): 1105-1118.
- [8] Ma X, Wen Y, Wang Y, et al. Linc00662 plays an oncogenic role in bladder cancer by sponging miR-199a-5p[J]. *Am J Transl Res*, 2021, 13(11): 12673-12683.
- [9] Zhang J, Jin S, Xiao W, et al. Long noncoding RNA LINC00641 promotes renal cell carcinoma progression via sponging microRNA-340-5p[J]. *Cancer Cell Int*, 2021, 21(1): 210-220.
- [10] Zhang Z, Liang X, Ren L, et al. LINC00662 promotes cell viability and metastasis in esophageal squamous cell carcinoma by sponging miR-340-5p and upregulating HOXB2[J]. *Thorac Cancer*, 2020, 11(8): 2306-2315.
- [11] Zhang L, Wu B, Wang D. The mechanism of long-chain acyl-CoA synthetase 3 in inhibiting cell proliferation, migration, and invasion in clear cell renal cell carcinoma[J]. *Am J Cancer Res*, 2023, 13(3): 835-851.
- [12] Luo L, Wei D, Pan Y, et al. MFN2 suppresses clear cell renal cell carcinoma progression by modulating mitochondria-dependent dephosphorylation of EGFR[J]. *Cancer Commun (Lond)*, 2023, 43(7): 808-833.
- [13] 姚志峰,潘志尧,姚毅文,等. 长链非编码RNA Linc00662促进前列腺癌细胞生长的研究[J]. *中华男科学杂志*, 2020, 26(7): 588-594.
- [14] Wang H, Yu M, Hu W, et al. Linc00662 promotes tumorigenesis and progression by regulating miR-497-5p/AVL9 axis in colorectal cancer[J]. *Front Genet*, 2020, 10(1): 1385-1397.
- [15] Tian X, Wu Y, Yang Y, et al. Long noncoding RNA LINC00662 promotes M2 macrophage polarization and hepatocellular carcinoma progression via activating Wnt/ $\beta$ -catenin signaling[J]. *Mol Oncol*, 2020, 14(2): 462-483.
- [16] Arbel-Groissman M, Liefshitz B, Katz N, et al. PCNA unloading is crucial for the bypass of DNA lesions using homologous recombination[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(6): 3359-3370.
- [17] Jiao QH, Wang Y, Zhang AN, et al. PSMA7 promotes the malignant proliferation of esophageal cancer[J]. *Heliyon*, 2023, 10(1): e23173.
- [18] Zhang C, Li HX, Man Y, et al. Exploring the role of histone deacetylase inhibitors in cancer development and therapeutic potential[J]. *J Physiol Pharmacol*, 2024, 75(2): 117-122.
- [19] Li F, Wan X, Li Z, et al. High glucose inhibits autophagy and

- promotes the proliferation and metastasis of colorectal cancer through the PI3K/Akt/mTOR pathway[J]. *Cancer Med*, 2024, 13(11): e7382.
- [20] Zhang B, Ye Q. Linc00662 sponges miR-15b-5p to promote hypopharyngeal squamous cell carcinoma progression by facilitating cancer stem cell-like phenotypes[J]. *J Cancer*, 2024, 15(12): 3781-3793.
- [21] Cheng B, Rong A, Zhou Q, *et al.* LncRNA LINC00662 promotes colon cancer tumor growth and metastasis by competitively binding with miR-340-5p to regulate CLDN8/IL22 co-expression and activating ERK signaling pathway[J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2020, 39(1): 5-25.
- [22] Tang J, Tang R, Gu P, *et al.* Hsa\_circ\_0019054 up-regulates HIF1A through sequestering miR-340-5p to promote the tumorigenesis of intrahepatic cholangiocarcinoma[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2022, 41(1): 9603271221126494.
- [23] Zeng F, Luo L, Song M, *et al.* Silencing of circular RNA PUM1 inhibits clear cell renal cell carcinoma progression through the miR-340-5p/FABP7 axis[J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2022, 42(2): 141-150.
- [24] Yang KD, Wang Y, Zhang F, *et al.* CircN4BP2L2 promotes colorectal cancer growth and metastasis through regulation of the miR-340-5p/CXCR4 axis[J]. *Lab Invest*, 2022, 102(1): 38-47.
- [25] Liu L, Yan Y, Zhang G, *et al.* Knockdown of LINC01694 inhibits growth of gallbladder cancer cells *via* miR-340-5p/Sox4[J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(4): BSR20194444.

(责任编辑: 蒋铭敏)

